·论著·

枢经推拿对神经病理性疼痛大鼠 TLR8/ERK 信号通路及 LncRNA-GAS5 的影响及作用机制

韦宗波[1]，龙炳材[1]，王雄将[1*]，梁英业[2]，唐宏亮[3]，夏天[1]，卢栋明[2]

【摘要】 **背景** 近年来，枢经推拿在治疗神经病理性疼痛方面展现出较好的疗效，但其具体作用机制尚未充分阐明。**目的** 以 L_5 脊神经结扎而成的神经病理性疼痛大鼠模型为观察对象，根据各项研究指标观察枢经推拿对大鼠的镇痛作用，探讨其是否通过影响 LncRNA-GAS5 进而调控脊髓背角神经元凋亡达到镇痛效果。**方法** 实验于 2021 年 1—6 月在广西中医药大学、广西大学动物医学实验中心完成。选取健康雌性 SD 大鼠 120 只，按随机数字表法分为正常组、模型组、假手术组、假推拿组和枢经推拿组，每组 24 只；假手术组、模型组、假推拿组和枢经推拿组通过结扎 L_5 脊神经来制备神经病理性疼痛大鼠模型。造模 24 h 后，假手术组暴露 L_5 脊神经几分钟，不予结扎，逐层缝合关闭伤口；假推拿组轻抚大鼠双后肢 18 min；枢经推拿组用自备按摩仪循序刺激两侧足少阳胆经上的环跳、阳陵泉、悬钟三穴，刺激力量为 5 N，频率 2 Hz，每穴、每法干预 1 min，双侧 6 个穴位，3 种手法，共计 18 min；正常组、模型组正常喂养及观察，不施加任何干预。于造模前及造模后 1、3、7、14 d 分别进行行为学检测（机械缩足反射阈值、热缩足反射潜伏期）；分别于干预 7、14 d，随机抽取 12 只进行取材检测脊髓组织中介导 TLR8/ERK 信号通路相关蛋白表达情况（脊髓组织 Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平，LncRNA-GAS5、miR-21 基因表达水平）。**结果** （1）行为学方面，模型组、假推拿组、枢经推拿组大鼠造模后 1、3、7、14 d 机械缩足反射阈值均低于正常组（$P<0.05$）；假推拿组、枢经推拿组的机械缩足反射阈值在造模后 14 d 均高于模型组（$P<0.05$）；枢经推拿组造模后 7、14 d 机械缩足反射阈值高于假推拿组（$P<0.05$）。假手术组、枢经推拿组在造模后 1、3、7 d 热缩足反射潜伏期均低于正常组（$P<0.05$）；假推拿组、枢经推拿组在造模后 7、14 d 热缩足反射潜伏期均长于模型组（$P<0.05$）；枢经推拿组在造模后 14 d 热缩足反射潜伏期长于假推拿组（$P<0.05$）。（2）信号通路相关蛋白以及基因表达水平方面，造模后 7 d，正常组 Bcl-2 蛋白表达水平低于其余各组（$P<0.05$）；枢经推拿组的 Bcl-2 蛋白表达水平高于模型组，Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平均低于模型组（$P<0.05$）；枢经推拿组的 Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平低于假推拿组（$P<0.05$）；造模后 14 d，枢经推拿组的 Bcl-2 蛋白表达水平仍高于模型组，Caspase-3、TLR8 蛋白表达水平仍低于模型组，而 ERK 蛋白表达水平高于模型组（$P<0.05$）。造模后 7d，假推拿组和枢经推拿组 LncRNA-GAS5 基因表达水平均高于模型组，miR-21 基因表达水平均低于模型组（$P<0.05$）；枢经推拿组 LncRNA-GAS5 基因表达水平高于假推拿组，miR-21 基因表达水平低于假推拿组（$P<0.05$）；造模后 14 d，模型组 lncRNA-GAS5 基因表达水平低于正常组，枢经推拿组与假推拿组 lncRNA-GAS5 基因表达水平高于模型组（$P<0.05$）；枢经推拿组与假推拿组 miR-21 基因表达水平高于模型组（$P<0.05$）。**结论** 枢经推拿手法对神经病理性疼痛大鼠起到一定的镇痛效果，初步推测镇痛作用机制可能是通过升高 LncRNA-GAS5 的表达来吸附 miR-21 介导 TLR8/ERK 通路相关蛋白抑制神经元凋亡，虽然其具体机制未明确证实，但 LncRNA-GAS5 有望成为以后治疗神经病理性疼痛的新靶点。

【关键词】 疼痛；神经病理性疼痛；推拿疗法；枢经推拿；LncRNA-GAS5；镇痛；大鼠

【中图分类号】 R 441.1 【文献标识码】 A DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0145

韦宗波，龙炳材，王雄将，等. 枢经推拿对神经病理性疼痛大鼠 TLR8/ERK 信号通路及 LncRNA-GAS5 的影响及作用机制［J］. 中国全科医学，2023. DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0145.［www.chinagp.net］

WEI Z B，LONG B C，WANG X J，et al. Effect and mechanism of pivot meridian massage on TLR8/ERK signaling pathway and LncRNA-GAS5 in rats with neuropathic pain［J］. Chinese General Practice，2023.

Effect and Mechanism of Pivot Meridian Massage on TLR8/ERK Signaling Pathway and LncRNA-GAS5 in Rats with

基金项目：国家自然科学基金资助项目（82205305）；广西自然科学基金项目（2019GXNSFBA245074）；广西中青年教师科研基础能力提升项目（2020KY07014）；广西中医药大学校级科研项目（2019QN013）

1.530041 广西壮族自治区南宁市，广西中医药大学 2.530023 广西壮族自治区南宁市，广西中医药大学第一附属医院 3.538000 广西壮族自治区防城港市，广西中医药大学附属防城港医院

*通信作者：王雄将，主治医师；E-mail：958207546@qq.com

本文数字出版日期：2023-07-25

Neuropathic Pain *WEI Zongbo*[1], *LONG Bingcai*[1], *WANG Xiongjiang*[1*], *LIANG Yingye*[2], *TANG Hongliang*[3], *XIA Tian*[1], *LU Dongming*[2]

1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530041, China

2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530023, China

3. Fangchenggang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Fangchenggang 538000, China

[*]Corresponding author: WANG Xiongjiang, Attending physician; E-mail: 958207546@qq.com

【**Abstract**】 **Background** Pivotal meridian massage for neuropathic pain obtained favorable results in recent years, however, its specific mechanism of action has not been fully elucidated. **Objective** To observe the analgesic effect of pivotal meridian massage on rats according to the research indexes taking rat model of neuropathic pain induced by L_5 spinal nerve ligation as the object of observation, to further investigate whether the analgesic effect is achieved by affecting LncRNA-GAS5 and then regulating the apoptosis of neurons in the dorsal horn of the spinal cord. **Methods** The experiment was conducted from January to June 2021 at the Experimental Center for Animal Medicine of Guangxi University of Chinese Medicine and Guangxi University. A total of 120 healthy female SD rats were randomly divided into the normal group, model group, sham-operated group, sham-manipulation group, and meridian manipulation group, with 24 rats in each group. Rat model of neuropathic pain was prepared by ligating the L_5 spinal nerve in the sham-operated, model, sham-manipulation and meridian manipulation groups. After modeling for 24 hours, the L_5 spinal nerve was exposed for a few minutes without ligation, and the wound was closed layer by layer in the sham-operated group; hind limbs of the rats in the sham-manipulation group were gently stroked for 18 minutes; a self-made massager was used to sequentially stimulate the three acupoints on the bilateral Foot Shaoyang Gallbladder Meridian of Huan Tiao, Yang Ling Quan, and Xuan Zhong, with a stimulation force of 5 N, frequency of 2 Hz, intervention of 1 minute for each acupoint and technique, totaling 18 minutes in the meridian manipulation group. The normal group and model group were fed and observed normally without any intervention. Behavioral tests (mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency) were performed before modeling and on days 1, 3, 7, and 14 after modeling. On days 7 and 14 of the intervention, 12 rats were randomly selected for tissue sampling to detect the expression of TLR8/ERK signaling pathway-related proteins (Bcl-2, Caspase-3, ERK, TLR8 protein levels) and the expression levels of LncRNA-GAS5 and miR-21 genes in the spinal cord tissue. **Results** (1) In terms of behavioral observations, the mechanical withdrawal threshold of the model group, sham-manipulation group, and meridian manipulation group was lower than the normal group on days 1, 3, 7, and 14 after modeling ($P<0.05$). The mechanical withdrawal threshold of the sham-manipulation group and meridian manipulation group was higher than the model group on day 14 after modeling ($P<0.05$). The mechanical withdrawal threshold of the meridian manipulation group was higher than the sham-manipulation group on days 7 and 14 after modeling ($P<0.05$). The thermal withdrawal latency in the sham-manipulation group and meridian manipulation group was shorter than the normal group on days 1, 3, and 7 after modeling ($P<0.05$). The thermal withdrawal latency in the sham-manipulation group and meridian manipulation group was longer than the model group on days 7 and 14 after modeling ($P<0.05$). The meridian manipulation group had longer thermal withdrawal latency than the sham-manipulation group on day 14 after modeling ($P<0.05$). (2) In terms of protein and gene expression levels related to the signaling pathway, on day 7 after modeling, the Bcl-2 protein expression level in the normal group was lower than the other groups ($P<0.05$). The Bcl-2 protein expression level in the meridian manipulation group was higher than the model group, while the Caspase-3, ERK, and TLR8 protein expression levels were lower than the model group ($P<0.05$). The Bcl-2, Caspase-3, ERK, and TLR8 protein expression levels in the meridian manipulation group were lower than the sham-manipulation group ($P<0.05$). On day 14 after modeling, the Bcl-2 protein expression level in the meridian manipulation group remained higher than the model group, while the Caspase-3 and TLR8 protein expression levels remained lower than the model group, and the ERK protein expression level was higher than the model group ($P<0.05$). After 7 days of modeling, the expression level of LncRNA-GAS5 gene in the sham-manipulation group and meridian manipulation group was higher than the model group, while the expression level of miR-21 gene was lower than the model group ($P<0.05$). The expression level of LncRNA-GAS5 gene in the meridian manipulation group was higher than the sham-manipulation group, while the expression level of miR-21 gene was lower than the sham-manipulation group ($P<0.05$). After 14 days of modeling, the expression level of LncRNA-GAS5 gene in the model group was lower than the normal group, while the expression level of LncRNA-GAS5 gene in the meridian manipulation group and sham-manipulation group was higher than the model group($P<0.05$). The expression level of miR-21 gene in the meridian manipulation group and sham-manipulation group was higher than the model group ($P<0.05$). **Conclusion** The meridian manipulation technique has a certain analgesic effect on rats with neuropathic pain. It is initially hypothesized that the analgesic mechanism may be achieved by upregulating the expression level of LncRNA-GAS5 to

inhibit neuronal apoptosis by adsorbing miR-21 to mediate TLR8/ERK pathway-related proteins. Although the specific mechanism has not been conclusively confirmed，LncRNA-GAS5 is expected to be a new target for future treatment of neuropathic pain in the future.

【Key words】 Pain；Neuropathic pain；Tuina therapy；Pivot meridian massage；LncRNA-GAS5；Analgesia；Rats

神经病理性疼痛（neuropathic pain，NPP）是指由中枢支配的躯体感觉神经系统受损而导致的疼痛，属于难治性慢性疼痛综合征，通常表现为自发痛、触诱发痛、痛觉过敏以及感觉异常等临床症状，其持续时间一般超过3个月，影响患者睡眠质量，进一步引起患者焦虑、抑郁等情绪障碍，严重危害了患者的生活质量[1-2]。NPP仍是当前医学界亟待攻克的难题之一，其发病机制尚无完善理论解释，也无特效治疗方案，因此寻找一种安全高效的治疗方法迫在眉睫。古往至今，祖国医学对各种疼痛的病因、病机已形成较为系统的认识，在长期的临床工作中中医药镇痛治疗NPP取得了不错的疗效，特别是近年来针灸、推拿等中医外治的镇痛效果也取得了一定进展[3-4]，相比于药物、外科等镇痛方法，其经济安全、效果优良、不良反应少等优势受到广大医生和患者的青睐，成为临床关注的热点。然而，中医药在治疗NPP方面缺乏明确的镇痛机制且临床研究质量良莠不齐，使其无法在疼痛治疗中获得更高证据级别推荐，这有碍于中医药在临床上的进一步应用和推广。

枢经推拿是基于枢经学说，强调以“枢”为主、“转”为精髓来总枢全身之气机，调转气血精液之运行为作用的中医推拿疗法。枢经是气机交接转枢之地，体现在转枢表里阴阳之气和通调脏腑之气，起到行气活血、疏通经络的功效[5]，因此体表少阳、少阴两枢的经络穴位在推拿手法的作用加持下，能更有效地缓解、消除疼痛，且NPP部位与受损区域有直接联系，故可尝试通过枢经推拿作用于受损区域来缓解疼痛。神经损伤会改变miRNA的表达，而miR-21作为其中的一员，已有研究证实其在神经保护和修复过程中发挥了重要作用[6-7]。作为丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）家族重要成员之一的细胞外调节蛋白激酶（ERK），经活化作用后进入细胞核，通过激活核糖体S6激酶使CREB磷酸化，从而调节其下游相关因子转录，参与突触可塑性，抑制神经元凋亡，介导神经元修复与再生等活动[8]。TLR8是轴突生长的负调控因子及神经元凋亡的诱导因子[9]，最新研究表明，Toll样受体8（TLR8）在NPP大鼠的脊髓背角中表达显著增加，miR-21是其内源性配体，TLR8通过miR-21的活化导致ERK磷酸化介导炎症介质的产生以及神经元的过度兴奋来参与NPP[10]，因此通过抑制miR-21介导的TLR8/ERK通路可能影响脊髓背角神经元的凋亡从而阻隔疼痛传递。长链非编码RNA GAS5（LncRNA-GAS5）已证明与神经元的凋亡发生密切相关[11]，在前期的预实验中发现，LncRNA-GAS5在NPP大鼠脊髓背角中低表达，枢经推拿干预后表达升高，因此本课题组推断枢经推拿可能通过影响LncRNA-GAS5表达进而参与调控NPP的发生、发展和维持。基于此，本研究构建L_5脊神经结扎（spinal nerve ligation，SNL）疼痛模型大鼠，观察枢经推拿对SNL大鼠脊髓背角组织中LncRNA-GAS5、miR-21基因、ERK、TLR8蛋白及其他涉及此通路的因子表达水平的变化影响，旨在深入探讨基于LncRNA-GAS5下枢经推拿对SNL大鼠的镇痛作用及机制，以期为临床枢经推拿治疗NPP提供有力的科学研究依据。

1 材料与方法

1.1 时间及地点 实验于2021年1—6月在广西中医药大学、广西大学动物医学实验中心完成。

1.2 材料

1.2.1 实验动物 选取120只健康、雌性SD大鼠，体质量140~160 g〔购于湖南斯莱克公司，使用许可证：SYXK（桂）2019-0004〕，在广西大学动物医学实验中心分笼饲养，饲养条件：室温20~25 ℃，湿度35%~45%，12 h自然光照，自由饮水进食。实验研究通过广西中医药大学动物实验伦理审查（No. DW20220621-129）。

1.2.2 主要实验试剂 注射用青霉素钠（齐齐哈尔市双富兽药有限公司，中国），水合氯醛（成都市科龙化工试剂厂，中国），DEPC处理水（上海吉凯基因医学科技股份有限公司，中国），BCA蛋白浓度测定试剂盒（北京索莱宝科技有限公司，中国），兔抗鼠TLR8（Abcam，英国），兔抗鼠ERK（Abcam，英国）。

1.2.3 主要实验仪器 大鼠脑立体定位仪（Narishiga，日本）光学显微镜（奥林巴斯CX23，中国青岛），共聚焦显微镜（奥林巴斯BX43，中国青岛），酶标仪（OLYMPUS，日本），低温高速离心机（EPPENDORF，德国），Von Frey纤维丝测痛仪（Stoelng，美国），热板痛觉测试仪（IITC，美国），按摩推拿手法模拟仪（中国人民共和国发明专利号：ZL200710187403.1）。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物分组 大鼠适用性喂养7 d后，按随机数字表法分为正常组、模型组、假手术组、假推拿组和枢经推拿组，每组24只。假手术组、模型组、假推拿组和枢经推拿组进行造模。

1.3.2 实验动物模型制备 参照KIM等[12]的方法制备SNL大鼠模型，具体如下：（1）大鼠腹腔注射7%水合氯醛（按体质量4 mL/kg）深度麻醉。（2）清洁备皮，

用 75% 酒精消毒后铺巾，将定位好的两侧髂后上嵴最高点水平连线，与后正中线交点处沿左侧棘旁肌纵轴方向做一长约 1.8 cm 的切口。（3）钝性分离皮肤、筋膜浅组织及肌肉深组织，暴露 L_5 椎体横突，随后用咬骨钳咬断 L_5 横突和 L_4、L_6 锥体之间的骨性连接，充分暴露 L_5 脊神经。（4）将暴露的 L_5 脊神经用无创尼龙线双层紧密结扎，整个操作过程禁止过度牵拉脊神经。（5）最后予 0.9% 氯化钠溶液冲洗伤口彻底止血后逐层缝闭伤口。

造模成功标准：休息状态下可见大鼠出现经常性舔舐、术侧下肢后足悬空，活动状态下可见大鼠出现保护性悬起术侧下肢行为，无患肢瘫痪、拖步等运动障碍，即可判定造模成功。

1.3.3 分组治疗方法 造模成功后，正常组、模型组正常喂养及观察，不施加任何干预；假手术组切开组织暴露 L_5 脊神经几分钟，不予结扎，并未造成神经实质性损伤；假推拿组在布袋的约束下轻抚大鼠双后肢 18 min；枢经推拿组用自备按摩仪模拟点法、揉法、拨法三种手法，分别循序刺激两侧足少阳胆经上的环跳、阳陵泉、悬钟三穴，刺激力量为 5 N，频率为 2 Hz，每穴每法干预 1 min，双侧 6 个穴位，3 种手法，共计 18 min。

1.4 主要观察指标 于造模前及造模后 1、3、7、14 d 分别进行行为学检测（机械缩足阈值、热缩足潜伏期），分别于干预 7、14 d，随机抽取 12 只进行取材检测脊髓组织中介导 TLR8/ERK 信号通路相关蛋白表达情况（脊髓组织 Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平，LncRNA-GAS5、miR-21 表达水平）。

1.4.1 机械缩足阈值测定 将大鼠放入底部铁丝网孔径为 0.5 cm×0.5 cm 的透明铁笼中，待大鼠适应周围环境后，分别用代表不同刺激强度的 von-Frey 纤维丝从底部铁丝网穿过，直接刺激大鼠左足底中心部位，刺激力度由小到大，观察大鼠出现缩足或抖足等阳性行为后停止刺激，并记录数据。连续测量 3 次，取平均值作为机械缩足阈值。

1.4.2 热缩足潜伏期测定 室内空调恒温于 25 ℃，热板痛觉测试仪置于有机透明玻璃动物笼内，将测试仪温度调至 55 ℃后放入大鼠，并封闭盖子按下计时器。当观察到大鼠开始出现频繁抬足、舔爪等阳性行为后停止计时并记录时间。连续测量 3 次，每次间隔 20 min，取平均值作为大鼠热痛缩足反应潜伏期。

1.4.3 取材 对大鼠禁食 12 h 后取脊髓背角组织并称重记录，取材使用的手术器械前一晚用 0.1% DEPC 处理水浸泡，以防止酶污染；按体质量 4 mL/kg 标准腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉，回抽无血液回流方可注射，大鼠四肢无伸缩等动作即为麻醉成功；断头处死麻醉的大鼠后，迅速分离大鼠脊柱旁肌肉及组织，取出腰膨大段（$L_{2\sim5}$）脊髓背角组织；随后使用液氮冷冻组织，置于 -80 ℃冰箱冻存，标本使用期限应在 3 个月内。

1.4.4 大鼠脊髓组织 Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平检测 取 1.4.3 中部分脊髓组织，采用 Western Blot 检测组织内蛋白水平：测定目的蛋白含量，制备蛋白上样样本，采用 10% 分离胶，根据目的蛋白、内参的分子量进行切胶后转膜，再行免疫反应化学发光处理进行凝胶成像分析，最后使用 Bio-Rad 自带软件对各条带密度进行测定。

1.4.5 大鼠脊髓组织 LncRNA-GAS5、miR-21 表达水平检测 取 1.4.3 中部分脊髓组织，采用 Trizol 试剂提取相应组织和细胞中总 RNA，采用 Takara 反转录试剂盒 PrimeScriptTMRTMaster Mix（DRR036A）说明书，将 RNA 样本逆转录为 cDNA，再根据 2×Taq PCR MasterMix 试剂说明书进行实时荧光 PCR 扩增反应。

1.4.6 免疫荧光 所有切片需经过梯度二甲苯脱蜡（100%、90%、80%）及梯度乙醇水化处理（100%、90%、80%、70%）以备染色处理。各组切片浸泡 PBS 5 min 后滴加 3% H2O2，在室温下孵育 15 min；再用 PBS 充分洗涤后滴加山羊血清，室温孵育 1 h。一抗 NeuN（1 ∶ 400）在 4 ℃冰箱留夜，次日 PBS 冲洗 3 次；二抗（FITC）避光常温孵育 1 h，PBS 冲洗 3 次；DAPI 孵育 25 min 复染核，于荧光共聚焦显微镜下观察，适应 ImageJ 软件摄取各组荧光强度图片。

1.4.7 细胞凋亡检测 所有切片需经过梯度二甲苯脱蜡（100%、90%、80%）及梯度乙醇水化处理（100%、90%、80%、70%）以备染色处理；滤纸吸干切片组织周围的水分，滴加 100 μL 1× 蛋白酶 K 至各个样本上，置于 37 ℃恒温下反应 20 min；样本通透完毕后，PBS 漂洗 3 次；其次，往各个样本中滴加 100 μL TdT Equilibration Buffer，置于 37 ℃恒温下反应 10~30 min 后利用吸水纸吸除样本中的 TdT Equilibration Buffer；每个样本再滴加 50 μL 标记工作液，放入湿盒中避光反应 1 h; 将各个样本再次浸入 PBS 漂洗 3 次; 同前吸干水分后，往各个样本滴加 DAPI 对细胞核进行复染；最后将各个样本浸入 PBS 漂洗 4 次；晾干后用含抗荧光淬灭剂（自备）的封片剂封片；适应 ImageJ 软件摄取各组荧光强度图片。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件对数据进行分析，计量资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-t 检验。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠行为学表现

2.1.1 机械缩足反射阈值比较 造模前，各组大鼠机

械缩足反射阈值比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。模型组、假推拿组、枢经推拿组造模后 1、3、7、14 d 机械缩足反射阈值均低于正常组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；假手术组在造模后 7、14 d 机械缩足反射阈值与正常组比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；假推拿组、枢经推拿组的机械缩足反射阈值在造模后 14 d 均高于模型组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；枢经推拿组造模后 7、14 d 机械缩足反射阈值高于假推拿组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 1。

2.1.2 热缩足反射潜伏期比较 造模前，各组大鼠热缩足反射潜伏期比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。假手术组、枢经推拿组在造模后 1、3、7 d 热缩足反射潜伏期均低于正常组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；造模后 14 d 假手术组、枢经推拿组热缩足反射潜伏期与正常组比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；假推拿组、枢经推拿组在造模后 7、14 d 热缩足反射潜伏期均长于模型组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；枢经推拿组在造模后 14 d 热缩足反射潜伏期长于假推拿组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 2。

2.2 脊髓组织中介导 TLR8/ERK 信号通路相关蛋白表达情况

2.2.1 脊髓组织中 Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平比较 造模后 7 d，正常组 Bcl-2 蛋白表达水平低于其余各组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；假推拿组、假手术组与模型组的 Caspase-3、ERK 蛋白表达水平比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。枢经推拿组的 Bcl-2 蛋白表达水平高于模型组，Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平均低于模型组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；枢经推拿组的 Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平均低于假推拿组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 3 及图 1。

造模后 14 d，枢经推拿组的 Bcl-2 蛋白表达水平仍高于模型组，Caspase-3、TLR8 蛋白表达水平仍低于模型组，而 ERK 蛋白表达水平高于模型组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 4 及图 2。

2.2.2 脊髓组织中 miR-21、LncRNA-GAS5 基因表达水平比较 造模后 7 d，假推拿组和枢经推拿组 LncRNA-GAS5 基因表达水平均高于模型组，miR-21 基因表达水平均低于模型组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；枢经推拿组与假推拿组的 miR-21、LncRNA-GAS5 基因表达水平比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）；枢经推拿组 LncRNA-GAS5 基因表达水平高于假推拿组，miR-21 基因表达水平低于假推拿组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 5。

造模后 14 d，模型组 lncRNA-GAS5 基因表达水平低于正常组，枢经推拿组与假推拿组 lncRNA-GAS5 基因表达水平高于模型组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；枢经推拿组与假推拿组 miR-21 基因表达水平高于模型组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 6。

2.3 免疫荧光检测各组大鼠脊髓组织内神经元凋亡情

表 1 各组大鼠造模前后的机械缩足反射阈值比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 1 Comparison of mechanical withdrawal threshold before and after modeling in each group of rats

组别	造模前	造模后 1 d	造模后 3 d	造模后 7 d	造模后 14 d
正常组	54.33 ± 0.79	54.77 ± 5.76	49.80 ± 3.84	53.01 ± 5.37	54.21 ± 0.57
模型组	54.33 ± 0.79	7.41 ± 1.33[a]	11.94 ± 3.58[a]	14.47 ± 2.16[a]	21.70 ± 3.50[a]
枢经推拿组	54.33 ± 0.79	14.21 ± 1.34[a，b，d]	20.73 ± 1.10[a，b，d]	41.54 ± 1.73[a，b，c，d]	45.21 ± 4.60[a，b，c]
假推拿组	55.41 ± 2.35	13.80 ± 1.10[a，b]	15.49 ± 3.68[a]	20.48 ± 2.12[a]	28.54 ± 3.02[a，b]
假手术组	55.53 ± 0.61	36.21 ± 4.02[a，b，c]	42.15 ± 2.19[a，b，c]	48.09 ± 3.69[b，c]	50.67 ± 4.66[b，c]
F 值	0.75	108.20	90.90	80.30	47.10
P 值	0.577	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：[a] 表示与正常组比较 $P<0.05$，[b] 表示与模型对照组比较 $P<0.05$，[c] 表示与假推拿组比较 $P<0.05$，[d] 表示与假手术组比较 $P<0.05$。

表 2 各组大鼠造模前后热缩足反射潜伏期比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 2 Comparison of thermal withdrawal latency of rats in each group before and after modeling

组别	造模前	造模后 1 d	造模后 3 d	造模后 7 d	造模后 14 d
正常组	28.09 ± 0.68	25.85 ± 2.10	28.42 ± 1.62	27.44 ± 0.10	27.42 ± 1.47
模型组	29.16 ± 3.64	12.62 ± 1.25[a]	11.86 ± 2.36[a]	10.22 ± 1.03[a]	9.56 ± 0.59[a]
枢经推拿组	30.19 ± 5.39	15.73 ± 2.15[a]	18.08 ± 0.77[a，b，c，d]	16.86 ± 1.71[a，b，d]	24.19 ± 2.27[b，c]
假推拿组	29.44 ± 2.99	11.95 ± 4.98[a]	11.91 ± 1.60[a]	14.57 ± 3.95[a，b]	17.91 ± 3.34[a，b]
假手术组	30.19 ± 4.61	17.30 ± 2.68[a，c]	21.39 ± 1.24[a，b，c]	22.01 ± 2.44[a，b，c]	26.34 ± 1.89[b，c]
F 值	0.15	10.90	56.60	26.20	36.90
P 值	0.95	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：[a] 表示与正常组比较 $P<0.05$，[b] 表示与模型对照组比较 $P<0.05$，[c] 表示与假推拿组比较 $P<0.05$，[d] 表示与假手术组比较 $P<0.05$。

表 3　造模后 7 d 各组大鼠脊髓组织中 Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 3　Comparison of protein expression levels of Bcl-2，Caspase-3，ERK，and TLR8 in spinal cord tissues of rats in each group on day 7 after modeling

组别	Bcl-2	Caspase-3	ERK	TLR8
正常组	0.42 ± 0.08	0.54 ± 0.03	0.62 ± 0.11	0.13 ± 0.03
模型组	0.49 ± 0.09[a]	0.66 ± 0.05[a]	0.70 ± 0.12[a]	0.19 ± 0.03[a]
枢经推拿组	0.56 ± 0.10[a，b，c，d]	0.51 ± 0.05[b，c，d]	0.53 ± 0.10[a，b，c，d]	0.08 ± 0.01[a，b，c，d]
假推拿组	1.14 ± 0.10[a，b]	0.73 ± 0.11[a]	0.86 ± 0.13[a]	0.12 ± 0.03[b]
假手术组	1.29 ± 0.12[a，b]	0.71 ± 0.03[a]	0.76 ± 0.13[a]	0.15 ± 0.02
F 值	50.60	5.60	3.40	4.90
P 值	<0.001	0.01	0.01	0.01

注：[a] 表示与正常组比较 $P<0.05$，[b] 表示与模型对照组比较 $P<0.05$，[c] 表示与假推拿组比较 $P<0.05$，[d] 表示与假手术组比较，$P<0.05$；ERK=调节蛋白激酶，TLR8=Toll 样受体 8。

表 4　造模 14 天各组大鼠脊髓组织中 Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 4　Comparison of protein expression levels of Bcl-2，Caspase-3，ERK，and TLR8 in spinal cord tissues of rats in each group on day 14 after modeling

组别	Bcl-2	Caspase-3	ERK	TLR8
正常组	0.08 ± 0.04	0.23 ± 0.03	0.43 ± 0.03	0.12 ± 0.02
模型组	0.48 ± 0.21[a]	0.57 ± 0.07[a]	0.54 ± 0.02[a]	0.20 ± 0.03[a]
枢经推拿组	0.88 ± 0.19[a，b，c]	0.25 ± 0.03[b，c]	0.71 ± 0.04[a，b，c，d]	0.15 ± 0.02[a，b]
假推拿组	0.43 ± 0.19[a]	0.35 ± 0.07[a，b]	0.56 ± 0.03[a]	0.17 ± 0.03[a]
假手术组	0.73 ± 0.23[a]	0.24 ± 0.01[b，c]	0.60 ± 0.04[a]	0.18 ± 0.03[a]
F 值	8.20	26.80	28.40	4.60
P 值	0.003	<0.001	<0.001	0.020

注：[a] 表示与正常组比较 $P<0.05$，[b] 表示与模型对照组比较 $P<0.05$，[c] 表示与假推拿组比较 $P<0.05$，[d] 表示与假手术组比较，$P<0.05$。

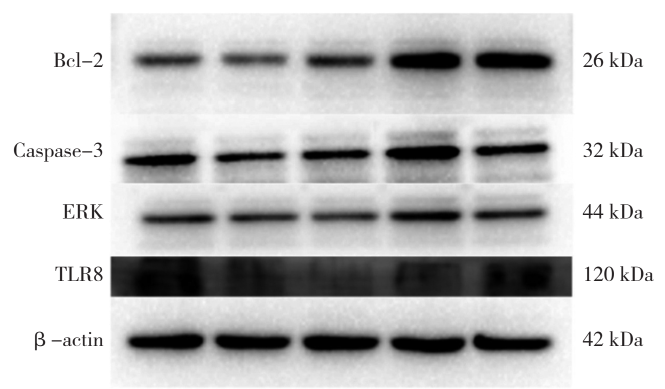


图 1　造模 7 d 各组大鼠 Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平变化

Figure 1　Changes of Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 protein levels in spinal cord tissue of rats on day 7 after modeling

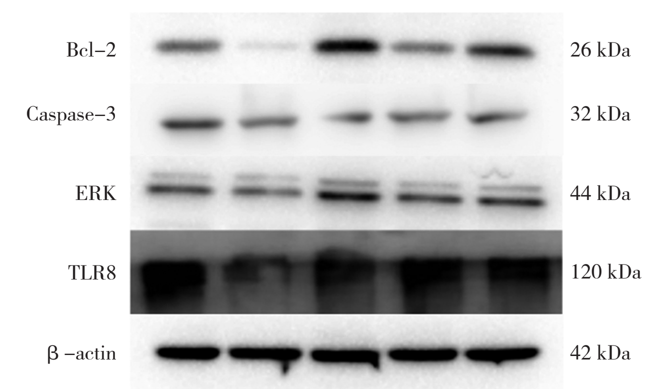


图 2　造模 14 d 各组大鼠 Bcl-2、Caspase-3、ERK、TLR8 蛋白表达水平变化

Figure 2　Changes in protein expression levels of Bcl-2，Caspase-3，ERK，and TLR8 in rats of each group on day 14 after modeling

况　用 TUNEL/DAPI 和 NeuN/DAPI 荧光染色定位观察神经元凋亡，结果显示，造模后 7 d 与正常组比较，模型组、假推拿组、假手术组、枢经推拿组中细胞凋亡（TUNEL 阳性细胞）增多，神经元（NeuN 阳性细胞）显著减少；而枢经推拿组与模型组、假推拿组比较，细胞凋亡减少，神经元数量较多，且神经元凋亡减少，见图 3 及图 4。

3　讨论

对 NPP 的溯源发现，古代医学根据其临床表现将其归属"痹症"范畴。本次研究中的 NPP 大鼠模型背部肌肉疼痛、神经损伤，再结合其术后跛行、抬足等外观表现，无异于"痹症"临床症状，通过辨证分析其核心病机为气血痹阻筋脉。枢经推拿是基于枢经学说理论进行的推拿治疗，枢经学说理论源自《黄帝内经》，如《素问·阴阳离合论》曰："太阳为开，阳明为阖，少阳为枢……""太阴为开，厥阴为阖，少阴为枢……"；纵观历史各代医家对三种经脉作用如星罗棋布般的论述，其中较有代表的论述为"开阖统百病，枢统开阖"[13]。"枢经"是调节人体气血运行、脏腑功能平衡的中枢，因此气血津液的运行输布及脏腑生理功能的发挥在"枢

表 5 造模 7 d 各组大鼠脊髓组织中 miR-21、LncRNA-GAS5 基因表达水平比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 5 Comparison of gene expression levels of miR-21、LncRNA-GAS5 in spinal cord tissue of rats on day 7 after modeling

组别	LncRNA-GAS5	miR-21
正常组	1.00 ± 0.08	1.05 ± 0.37
模型组	0.29 ± 0.04[a]	2.77 ± 0.62[a]
枢经推拿组	3.33 ± 0.70[a, b, c, d]	0.39 ± 0.12[a, b, c]
假推拿组	2.37 ± 0.34[a, b]	1.10 ± 0.32[b]
假手术组	0.71 ± 0.17[a, c]	0.38 ± 0.06[a, b, c]
F 值	36.9	22.1
P 值	<0.001	<0.001

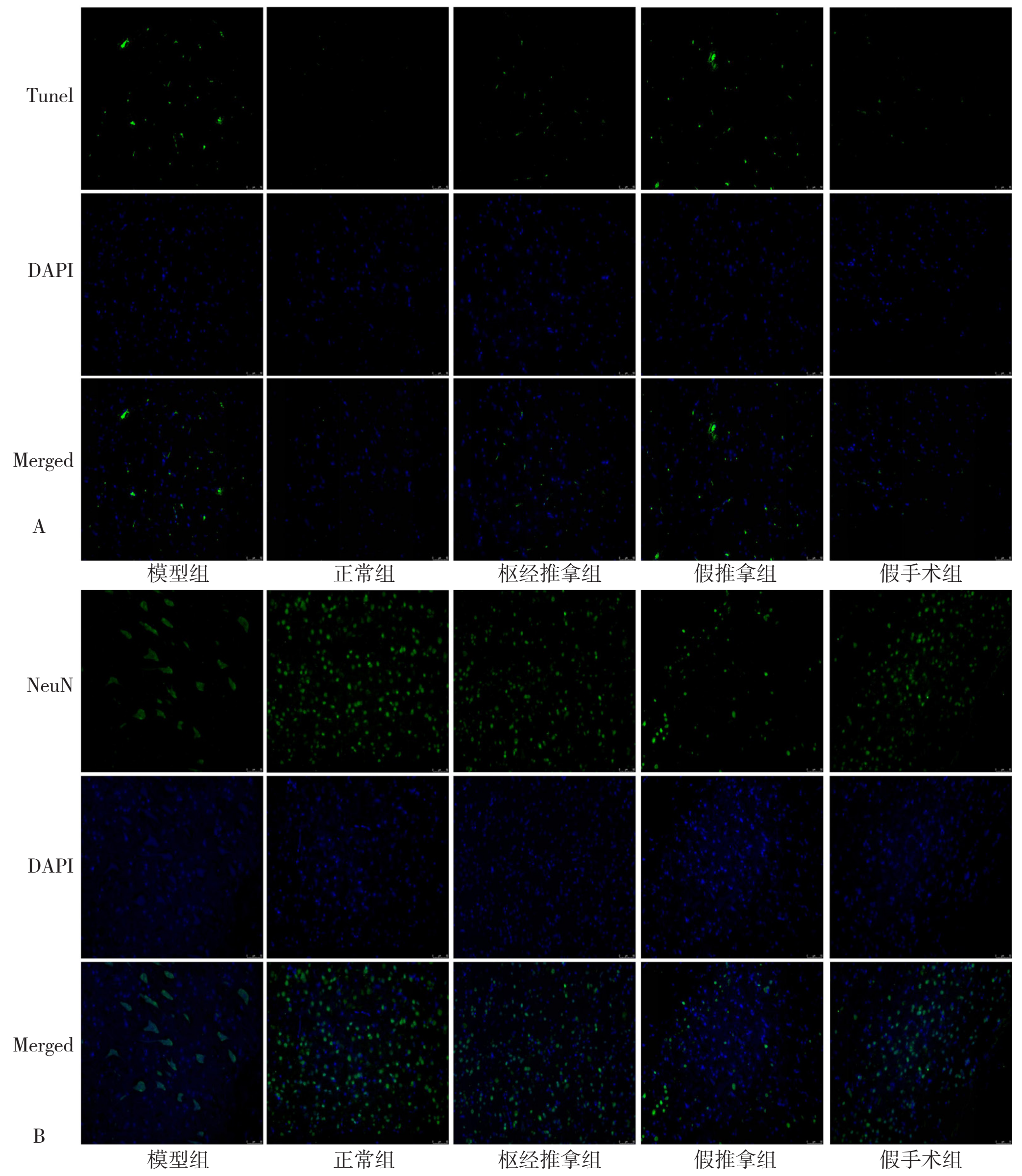
注：[a] 表示与正常组比较 $P<0.05$，[b] 表示与模型对照组比较 $P<0.05$，[c] 表示与假推拿组比较 $P<0.05$，[d] 表示与假手术组比较 $P<0.05$。

表 6 造模 14 d 各组大鼠脊髓组织中 miR-21、LncRNA-GAS5 基因表达水平比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 6 Comparison of gene expression levels of miR-21、LncRNA-GAS5 in spinal cord tissue of rats on day 14 after modeling

组别	LncRNA-GAS5	miR-21
正常组	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.01
模型组	0.20 ± 0.07[a]	0.67 ± 0.01[a]
枢经推拿组	4.79 ± 0.79[a, b, c, d]	3.19 ± 0.00[a, b, c, d]
假推拿组	2.13 ± 0.49[a, b]	5.10 ± 0.05[a, b]
假手术组	0.63 ± 0.07[a, b, c]	1.35 ± 0.01[a, b, c]
F 值	58.3	57.4
P 值	<0.001	<0.001

注：[a] 表示与正常组比较 $P<0.05$，[b] 表示与模型对照组比较 $P<0.05$，[c] 表示与假推拿组比较 $P<0.05$，[d] 表示与假手术组比较 $P<0.05$。

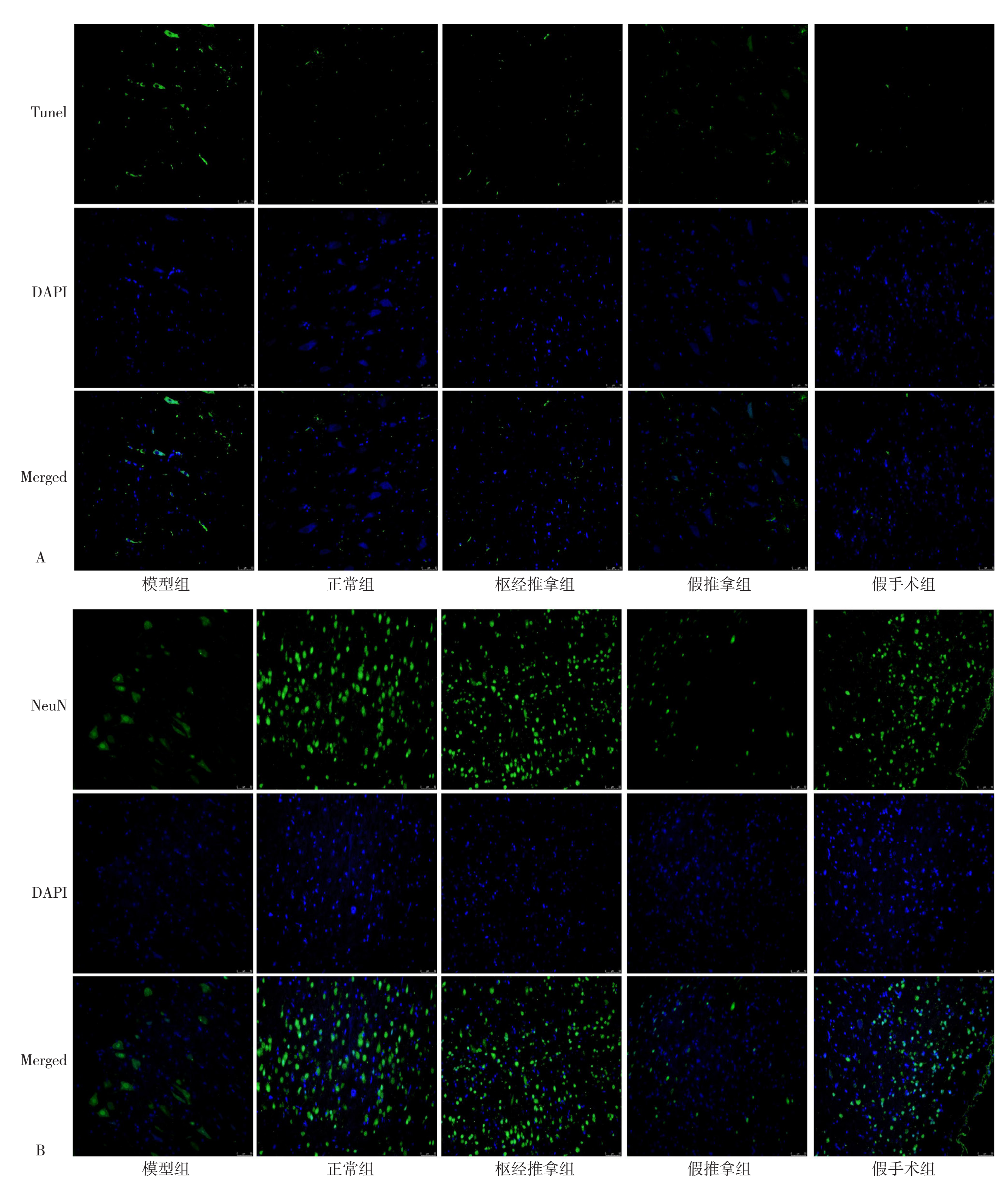


注：A 为 NeuN/DAPI 染色对比，NeuN 为正常活的神经元，标尺 =50 μm；B 为 Tunel/DAPI 染色对比，Tunel 为凋亡的细胞，标尺 =50 μm。

图 3 造模 7 d 后各组大鼠脊髓组织内神经元凋亡情况

Figure 3 Neuronal apoptosis in spinal cord tissue of rats on day 7 after modeling

经”调控下得以护卫，从而起到扶正祛邪、防病养生的关键作用[14]。足少阳胆经作为枢经之一，其位于人体之侧，循行周身众多筋肉骨节，而骨骼筋肉功能依靠着机体各功能的正常运作，其中气血的调和尤为重要；经络是气血运行的通道，推拿通过作用于枢经上的腧穴能够秉承调运全身气血运行之枢纽，尤以疏利胆经之气血，筋痹疼痛得以缓解。由此可见，干预 NPP 的关键经络是足少阳胆经，此次研究中使用的枢经推拿方式即选取



注：A 为 NeuN/DAPI 染色对比，NeuN 为正常活的神经元，标尺 =50 μm；B 为 Tunel/DAPI 染色对比，Tunel 为凋亡的细胞，标尺 =50 μm。

图 4 造模 14 d 后各组大鼠脊髓组织内神经元凋亡情况

Figure 4 Neuronal apoptosis in spinal cord tissue of rats on day 14 after modeling

足少阳胆经循行上的穴位进行点、拨、揉等推拿手法干预[15-17]。本研究结果显示，枢经推拿组与假推拿组的大鼠疼痛阈值相关指标机械缩足阈值与热缩足潜伏期较模型组相比均显著提升，即推拿通过升高疼痛阈值达到镇痛作用；而枢经推拿组的机械缩足阈值与热缩足潜伏期显著高于假推拿组，表明在枢经学说理论指导下进行推拿干预的镇痛效果更为明显。

NPP 的疼痛以顽固性、难愈性著称，其发生、发展和维持机制盘根错节，目前尚无明确的起效机制和治疗方法，随着科学研究的不断深入，已有学者提出神经敏感化、肌肉伤害感受神经元的塑形化、门控理论等观点[18]，NPP形成的关键病理因素为神经损伤和炎症[19]。研究表明，神经元凋亡是许多神经损伤后引发神经元死亡的主要方式之一，神经损伤后，产生的痛觉信号传入脊髓刺激神经元释放促炎相关因子，从而引发炎症反应，诱导神经元凋亡，而神经元本身没有增殖修复能力，最终导致神经元对疼痛敏感性升高[20-21]。因此，阻断或减轻脊髓背角神经元凋亡，是缓解 NPP 的有效方式。

越来越多的研究发现，LncRNA 可通过表观遗传和细胞凋亡调控许多疾病的发生、发展，逐渐成为近年来研究的热点，其中 LncRNA 参与 NPP 的调控引发广泛关注[22]。已有研究表明，在 SNL 大鼠脊髓背角存在大量 LncRNA 的差异表达，干预这些 LncRNA 能有效缓解疼痛，由此说明 LncRNA 在 NPP 的发生、发展过程中发挥着重要作用，其有望成为治疗 NPP 的新靶点[23]。特异性生长阻滞转录因子 5（GAS 5）是位于 1 号染色体长臂 2 区 5 带的一类 LncRNA，由 12 个外显子及 11 内含子组成，目前认为与神经元凋亡、血管重塑、炎症反应等生物行为相关[24]。ZHAO 等[25]在大鼠实验研究中发现通过抑制 LncRNA-GAS5 水平可以显著降低凋亡基因 BAX 的水平，并提高抗凋亡疾病 Bcl-2 的表达水平，最终表明敲低 LncRNA-GAS5 的表达对脑梗死模型大鼠神经元凋亡具有抑制作用。ZHANG 等[26]研究表明，LncRNA-GAS5 通过加剧神经元糖酵解作用来诱导神经元细胞凋亡。除了直接调控细胞凋亡外，LncRNA-GAS5 还可以发挥“分子海绵”的作用来吸附 miRNA 对靶基因起调控作用，进而在细胞凋亡中发挥作用[27]。已有研究证明，在神经元保护和修复过程中，miR-21 被确认具有关键性调控作用[28]。KARL 等[29]揭示了 SNL 大鼠脊髓和背根神经节（DRG）内 miR-21 的表达显著增加，鞘内注射 miR-21 抑制剂后，大鼠的机械性异常疼痛及热痛觉过敏均减轻，表明 miR-21 有望成为未来 NPP 治疗的下游靶点。本研究结果显示，造模 7 d 后，枢经推拿组与模型组、假推拿组比较细胞凋亡减少，神经元数量较多，且神经元凋亡减少，表明枢经推拿治疗可以显著减少 SNL 大鼠的神经元细胞凋亡。此外，模型组大鼠脊髓组织中 LncRNA-GAS5 表达水平低于正常组，而 miR-21 基因的表达水平高于正常组，提示 miR-21 在 SNL 大鼠中升高，与 KARL 等[29]研究结果一致。而与模型组相比，枢经推拿组的 LncRNA-GAS5 表达水平显著升高，与之同时 miR-21 表达水平显著降低，由此推测，枢经推拿作用于皮肤、肌肉等接收疼痛信号的外周躯体组织，略微阻断疼痛信号传至脊髓背角浅层，并刺激脊髓中的 LncRNA-GAS5 表达水平增长，LncRNA-GAS5 发挥“吸附作用”使得 miR-21 表达水平降低，从而间接起到抑制神经元凋亡的作用。另外，通过比较 7、14 d 模型组和枢经推拿组中 miR-21 的表达水平可发现，模型组中 miR-21 的表达由高表达变为低表达，与之相反，枢经推拿组中 miR-21 的表达则由低表达变为高表达，考虑为 14 d 模型组大鼠随着机体的自然修复，疼痛逐渐减轻，因此脊髓中 miR-21 的水平降低，而枢经推拿组大鼠在推拿干预下可能涉及参与调控 miR-21 的负反馈机制，然而具体机制尚不明确，有待日后进一步研究探讨。

TLR8 属于 Toll 受体家族成员，主要在中小型异凝集素 B4 非肽能神经元中表达，在病原体识别和先天免疫激活中起重要作用。已有研究证明，TLR8 及其介导的信号通路在 NPP 的调控过程中以调控炎症反应和免疫应答的方式参与，其中 TLR8 的激活具有抑制神经突生长和诱导神经元凋亡的能力，表明 TLR8 是轴突生长的负调控因子和神经元凋亡的诱导因子[30-31]。细胞外信号调节蛋白激酶（ERK）在神经保护中是关键酶之一，神经损伤会引起 ERK 磷酸化，ERK 磷酸化后可上调 BAD、BAX 等促凋亡蛋白，并下调 BCL-2 家族的抗凋亡蛋白以及激活凋亡终末效应器 Caspase 来触发聚腺苷二磷酸核糖聚合酶（PARP）蛋白水解，从而促进神经细胞凋亡[32]。ZHANG 等[10]研究发现，在 SNL 大鼠的脊髓背角中，TLR8 表达显著增加，miR-21 是其内源性配体，TLR8 通过 miR-21 的活化导致 ERK 磷酸化介导炎症介质的产生以及神经元的过度兴奋来参与 NPP。本研究结果显示，与模型组相比，枢经推拿组细胞凋亡诱导因子 TLR8 水平下调，miR-21 介导的 ERK 蛋白也随之下调；与之相反，抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平上升，其通过抑制了 Cyt-C 从线粒体释放，进而也降低 Caspase-3 的表达[33]，最终显著减少大鼠神经元的凋亡，缓解疼痛的发展，起到保护神经元的作用。

综上所述，本研究中推拿手法在枢经理论指导下通过干预足少阳胆经上的关键穴位可减轻疼痛部位的炎症反应，进一步调控脊髓背角神经元凋亡来达到缓解 NPP 的作用，其机制可能与通过上调 LncRNA-GAS5 的表达，下调 miR-21 以及调控 TLR8/ERK 通路上下游的相关蛋白和因子表达有关。本研究在一定程度上为临床枢经推

拿治疗 NPP 提供了实验依据，初步推测 LncRNA-GAS5 是通过发挥"分子海绵"功能吸附 miR-21 介导 TLR8/ERK 通路相关蛋白抑制神经元凋亡，虽然其具体机制未明确证实，但 LncRNA-GAS5 有望成为未来治疗 NPP 的新靶点，今后可用 miR-21 抑制剂或基因敲除等方式进一步探究 LncRNA-GAS5 与 miR-21、TLR8 以及 ERK 的关系，更深入阐明枢经推拿对 NPP 的镇痛机制。

作者贡献：韦宗波负责文章的构思、论文撰写及论文的修订；王雄将负责设计研究方案，进行动物造模；龙炳材、夏天、卢栋明进行整理数据、研究结果的分析；梁英业负责文章的质量控制与审校；唐宏亮提出研究思路，对文章整体负责、监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] SADOSKY A，SCHAEFER C，MANN R，et al. Burden of illness associated with painful diabetic peripheral neuropathy among adults seeking treatment in the US：results from a retrospective chart review and cross-sectional survey[J]. Diabetes Metab Syndr Obes，2013，6：79-92. DOI：10.2147/DMSO.S37415.

[2] SCHOLZ J，FINNERUP N B，ATTAL N，et al. The IASP classification of chronic pain for ICD-11：chronic neuropathic pain［J］. Pain，2019，160（1）：53-59. DOI：10.1097/j.pain.0000000000001365.

[3] 韦斌丽，唐宏亮，王雄将，等. 推拿对神经病理性疼痛大鼠脊髓磷酸化 P38MAPK 表达及炎性因子 IL-1β 的影响［J］. 时珍国医国药，2018，29（5）：1245-1248. DOI：10.3969/j.issn.1008-0805.2018.05.078.

[4] 杨欢，郑小兰，徐国海，等. 电针治疗糖尿病神经病理性疼痛机制的研究进展［J］. 中国疼痛医学杂志，2015，21（11）：855-858. DOI：10.3969/j.issn.1006-9852.2015.11.012.

[5] 庞军，唐宏亮，李建敏，等. "枢经" 学说初探［J］. 辽宁中医杂志，2011，38（3）：440-442.

[6] BARON R，BINDER A，WASNER G. Neuropathic pain：diagnosis，pathophysiological mechanisms，and treatment［J］. Lancet Neurol，2010，9（8）：807-819. DOI：10.1016/S1474-4422（10）70143-5.

[7] 刘丹红，熊霞军，廖君，等. 表观遗传学在缺血性脑卒中中的研究进展［J］. 中国中药杂志，2022，47（17）：4551-4559. DOI：10.19540/j.cnki.cjcmm.20220425.602.

[8] BARRAT F J. TLR8：No gain，no pain[J]. J Exp Med，2018，215（12）：2964-2966. DOI：10.1084/jem.20181899.

[9] COULTRAP S J，BUARD I，KULBE J R，et al. CaMKII autonomy is substrate-dependent and further stimulated by Ca2+/calmodulin［J］. J Biol Chem，2010，285（23）：17930-17937. DOI：10.1074/jbc.M109.069351.

[10] ZHANG Z J，GUO J S，LI S S，et al. TLR8 and its endogenous ligand miR-21 contribute to neuropathic pain in murine DRG［J］. J Exp Med，2018，215（12）：3019-3037. DOI：10.1084/jem.20180800.

[11] ZHANG Z L，LI X Q，CHEN F S，et al. Downregulation of LncRNA Gas5 inhibits apoptosis and inflammation after spinal cord ischemia-reperfusion in rats［J］. Brain Res Bull，2021，168：110-119. DOI：10.1016/j.brainresbull.2020.12.005.

[12] KIM S H，CHUNG J M. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat［J］. Pain，1992，50（3）：355-363. DOI：10.1016/0304-3959（92）90041-9.

[13] 刘力红. 思考中医［M］. 桂林：广西师范大学出版社，2006：133.

[14] 庞军，甘振宝，胡云丹，等. 艾灸调治偏头痛的枢经学说观点探讨［J］. 时珍国医国药，2013，24（7）：1709-1711. DOI：10.3969/j.issn.1008-0805.2013.07.078.

[15] 高学全，赵克蕊. 环跳穴浅析［J］. 天津中医药，2010，27（2）：123-124.

[16] 王志福，俞向梅，姚冉冉，等. SD 大鼠坐骨神经体表定位及相关针刺穴位的应用解剖研究［J］. 福建中医药大学学报，2012，22（6）：13-15. DOI：10.13261/j.cnki.jfutcm.002727.

[17] 辛思源，庞嘉，郭建恩，等. 从经穴效应角度探讨相对穴三阴交 - 悬钟的内在关系［J］. 辽宁中医杂志，2017，44（12）：2631-2633. DOI：10.13192/j.issn.1000-1719.2017.12.056.

[18] 张昊，房敏，蒋诗超，等. 推拿干预疼痛传导途径的研究进展[J]. 中华中医药杂志，2013，28（1）：171-174.

[19] SOMMER C，LEINDERS M，ÜÇEYLER N. Inflammation in the pathophysiology of neuropathic pain［J］. Pain，2018，159（3）：595-602. DOI：10.1097/j.pain.0000000000001122.

[20] UNCINI A，KUWABARA S. Nodopathies of the peripheral nerve：an emerging concept［J］. J Neurol Neurosurg Psychiatry，2015，86（11）：1186-1195. DOI：10.1136/jnnp-2014-310097.

[21] SUN Z G，WEI W，LIU H W，et al. Acute response of neurons：an early event of neuronal cell death after facial nerve injury［J］. World Neurosurg，2018，109：e252-257. DOI：10.1016/j.wneu.2017.09.157.

[22] CHU Q F，GU X Y，ZHENG Q X，et al. Long noncoding RNA SNHG4：a novel target in human diseases［J］. Cancer Cell Int，2021，21（1）：583. DOI：10.1186/s12935-021-02292-1.

[23] PAN Z Q，DU S B，WANG K，et al. Downregulation of a dorsal root ganglion-specifically enriched long noncoding RNA is required for neuropathic pain by negatively regulating RALY-triggered Ehmt2 expression［J］. Adv Sci，2021，8（13）：e2004515. DOI：10.1002/advs.202004515.

[24] FANG P P，WU Y P，ZHANG Z B，et al. The clinical value of long noncoding RNA GAS5 in acute ischemic stroke：correlation with disease risk，inflammation，severity，and risk of recurrence［J］. J Clin Lab Anal，2022，36（1）：e24171. DOI：10.1002/jcla.24171.

[25] ZHAO J H，WANG B，WANG X H，et al. Effect of lncRNA GAS5 on the apoptosis of neurons via the Notch1 signaling pathway in rats with cerebral infarction［J］. Eur Rev Med Pharmacol Sci，2019，23（22）：10083-10091. DOI：10.26355/eurrev_201911_19576.

[26] ZHANG X C，GU A P，ZHENG C Y，et al. YY1/LncRNA GAS5 complex aggravates cerebral ischemia/reperfusion injury through enhancing neuronal glycolysis［J］. Neuropharmacology，2019，158：107682. DOI：10.1016/j.neuropharm.2019.107682.

[27] ZHAO Z，SUN W，GUO Z Y，et al. Mechanisms of lncRNA/

microRNA interactions in angiogenesis［J］. Life Sci，2020，254：116900. DOI：10.1016/j.lfs.2019.116900.

［28］YAN H L，HUANG W X，RAO J，et al. miR-21 regulates ischemic neuronal injury via the p53/Bcl-2/Bax signaling pathway［J］. Aging，2021，13（18）：22242-22255. DOI：10.18632/aging.203530.

［29］KARL F，GRIEßHAMMER A，ÜÇEYLER N，et al. Differential impact of miR-21 on pain and associated affective and cognitive behavior after spared nerve injury in B7-H1 ko mouse［J］. Front Mol Neurosci，2017，10：219. DOI：10.3389/fnmol.2017.00219.

［30］MA Y H，LI J X，CHIU I，et al. Toll-like receptor 8 functions as a negative regulator of neurite outgrowth and inducer of neuronal apoptosis［J］. J Cell Biol，2006，175（2）：209-215. DOI：10.1083/jcb.200606016.

［31］WANG Z H，LIU T. microRNA21 meets neuronal TLR8：non-canonical functions of microRNA in neuropathic pain［J］. Neurosci Bull，2019，35（5）：949-952. DOI：10.1007/s12264-019-00366-9.

［32］刘伟，黄玮，李瑞琴. MAPK/ERK信号传导通路与肿瘤发生的相关机制研究进展［J］. 中国现代医药杂志，2016，18（8）：97-100. DOI：10.3969/j.issn.1672-9463.2016.08.0033.

［33］黄惠榕，余真铃，缪少芳，等. 捏脊按摩对大鼠缺血缺氧性脑病的干预作用及机制研究［J］. 福建中医药，2022，53（1）：17-21. DOI：10.13260/j.cnki.jfjtcm.012413.

（收稿日期：2023-05-14；修回日期：2023-07-10）

（本文编辑：崔莎）